



Original Paper

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Recherche des activités anti-inflammatoire et analgésique des extraits de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam) zepernick et timler (*Rutaceae*)

William DIATTA¹, Guata Yoro SY², Constance Ivette MANGA¹, Kady DIATTA¹, Alioune Dior FALL¹ et Emmanuel BASSENE^{1*}

¹Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal.

²Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal.

*Auteur correspondant, E-mail: aynenut@ucad.sn

RESUMÉ

En Afrique, l'espèce *Zanthoxylum zanthoxyloides* est largement utilisée dans le traitement de nombreuses affections comme la drépanocytose, les maladies inflammatoires et les douleurs. Les racines restent les parties de la plante les plus utilisées, ce qui pose le problème de la survie et de l'exploitation durable de l'espèce. Cette présente étude tente de trouver une alternative à l'utilisation des racines en médecine traditionnelle. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée sur un modèle d'œdème induit par la carraghénine sur la patte de rat Wistar. L'activité analgésique a été quant à elle, évaluée sur un modèle de douleur à l'acide acétique sur la souris. L'extrait hydroalcoolique de feuilles montre une activité anti-inflammatoire à la dose de 100 mg/kg *per os*, avec des pourcentages d'inhibition de l'œdème de 36,64% et 50,13% respectivement à la quatrième et sixième heures. A la sixième heure, la dose de 300 mg/kg a une activité supérieure à celle de l'acide acétylsalicylique à la dose de 100 mg/kg, avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 85,28% et 55,93%. Cet extrait à la dose de 300 mg/kg est doublé d'un effet analgésique qui est comparable à celui de l'acide acétylsalicylique à la dose de 100 mg/kg *per os* avec des pourcentages d'inhibition de la douleur respectifs de 72,91% et 73,21%. Ces résultats montrent que les feuilles et les racines sont douées de propriétés anti-inflammatoires et analgésiques. Dans une perspective de sauvegarde de l'espèce, les feuilles pourraient être utilisées à la place des racines dans la prise en charge de ces pathologies.

© 2014 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Zanthoxylum zanthoxyloides*, anti-inflammatoire, analgésique.

INTRODUCTION

L'inflammation et la douleur sont une caractéristique commune à la quasi-totalité des maladies non transmissibles (Prescott, 2013). Ces troubles peuvent également avoir une origine traumatique, surtout chez les populations dont les activités professionnelles

exposent celles-ci à ces syndromes inflammatoires et douloureux.

Plusieurs molécules à visée anti-inflammatoire et/ou analgésique sont proposées dans la prise en charge médicale de ces pathologies. Il s'agit essentiellement des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), corticoïdes, des anti-leucotriènes, des

© 2014 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i1.12>

inhibiteurs des cytokines pro-inflammatoires, des opiacés faibles et des opioïdes forts (Bannwarth et al., 2001 ; Abbal et al., 2013). Malgré la large gamme de produits utilisés, les plantes médicinales restent encore très utilisées en Afrique, dans la prise en charge de la pathologie inflammatoire et douloureuse (Eklu-Natey et Balet, 2012). Cependant, les modes d'exploitation des ressources phytothérapeutiques risquent de compromettre l'exercice de la phytothérapie traditionnelle, avec une réduction progressive de l'aire de distribution des espèces. *Zanthoxylum zanthoxyloides*, espèce de la flore africaine, n'échappe pas à ce constat. Cette plante est connue en Afrique pour ses nombreux usages en médecine traditionnelle, notamment dans le traitement de la drépanocytose (Pousset, 2004), de la pathologie inflammatoire et douloureuse (Aba et Mensah-Attipoe, 2008a; Aba et Mensah-Attipoe, 2008b) pour ne citer que ces maladies-là.

La récolte des racines qui sont les organes les plus prisés par les populations et les guérisseurs, menace la survie de cette espèce dans les écosystèmes. En l'absence de mesures de protection concernant l'espèce, le code forestier sénégalais ne l'ayant pas inscrite dans la liste des espèces totalement ou partiellement protégées, il importe de prendre des initiatives tendant à favoriser son utilisation durable, sans compromettre sa survie. Cette démarche est à l'origine de ce présent travail qui tente de trouver une alternative à l'usage des racines en médecine traditionnelle.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Feuilles ont été récoltées au mois de janvier, sur des pieds de l'espèce qui se trouvent au jardin des plantes utiles de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (FMPO/UCAD). Elles ont été séchées à l'ombre, dans une salle bien aérée, avant d'être réduites en poudre, à l'aide d'un broyeur électrique muni d'un tamis de calibre moyen. La poudre a été conservée dans des

sachets, à l'abri de la lumière. L'activité anti-inflammatoire est testée sur des rats mâles et femelles, blancs, de souche Wistar, de poids compris entre 96 et 186 g, âgés de 3 à 4 mois, élevés à l'animalerie du Laboratoire de pharmacologie de FMPO/UCAD. Ces rats ont été répartis en quatre lots de cinq aussi homogènes que possibles, dont un lot témoin.

L'activité analgésique est testée sur des souris blanches mâles et femelles de souche « Swiss », de poids compris entre 20 et 36 g. Ces souris ont été fournies par l'Institut Pasteur de Dakar. Elles ont été réparties en quatre lots de six.

Réactifs utilisés

Les solutions suivantes ont été utilisées :

- Extrait sec de l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* dissout dans le DMSO (diméthyl sulfoxyde) à raison de 10 mg/ml.
- solution de carraghénine à 1% dans l'eau physiologique
- acide acétique à 3%
- solution aqueuse de chlorure de sodium à 9‰
- solution aqueuse d'acide acétylsalicylique (Aspirine) : (anti-inflammatoire et analgésique de référence) dosée à 10 mg /ml.

Préparation de l'extrait de feuilles

Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, on introduit 75 g de poudre de feuilles, et un litre du mélange éthanol- eau distillée (800-200). Le tout est porté à ébullition modérée, pendant 30 mn. Le mélange est filtré après refroidissement et le filtrat obtenu évaporé sous vide jusqu'à obtention d'un résidu pâteux. Ce résidu qui est par la suite mis à sécher dans un dessiccateur, servira aux essais pharmacologiques.

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est évaluée par la méthode de l'inhibition de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine (Sy et al., 2009 ; Bassène, 2012).

Les rats sont mis à jeun 15 heures avant l'expérimentation. Le volume (V0) de la patte postérieure de chaque rat, avant traitement a été mesuré, une heure avant le test à l'aide d'un pléthysmomètre de marque Aplex. Le fonctionnement de cet appareil repose sur le principe de la poussée d'Archimède. Le volume initial de la patte est mesuré avant d'administrer les extraits par voie orale à l'aide d'une sonde gastrique. Les rats ont été traités avec les doses suivantes :

- Lot témoin : les rats ont été traités avec de l'eau physiologique 1 ml/100g de poids corporel ;
- Lot 1 : les rats ont été traités avec une solution aqueuse de l'extrait hydro-alcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, à la dose de 100 mg/kg, *per os*.
- Lot 2 : les rats ont été traités avec l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, à la dose de 300 mg/kg, *per os*.
- Lot de référence : les rats ont été traités avec de l'acide acétylsalicylique à la dose de 100 mg/kg, *per os*.

Une heure après gavage, on injecte à chaque rat 0,1 ml de solution de carraghénine à 1%, sous le coussinet plantaire de la patte.

La mesure du volume de la patte a été effectuée toutes les heures, jusqu'à la sixième heure.

Le pourcentage moyen d'augmentation du volume des pattes (PA), et le pourcentage d'inhibition de l'œdème (PI) ont été calculés à partir des formules suivantes :

$$PA = \frac{V_t - V_0}{V_0}$$

V0 = volume initial de la patte avant induction de l'œdème ;

Vt = volume de la patte après administration de la carraghénine et traitement.

$$PI = \frac{PATE - PATr}{PATE} \times 100$$

PATe = pourcentage d'augmentation de la patte du lot témoin ;

PATr = pourcentage d'augmentation de la patte du lot traité.

Les volumes moyens des pattes postérieures de rat ont été comparés par une analyse de variance (ANOVA), afin de prouver l'homogénéité entre les groupes. Les pourcentages moyens des variations de l'œdème de la patte arrière de rat à la 3^{ème} et 6^{ème} heure, ont également été comparés au groupe témoin avec le test du Ki-2. Une valeur de p < 0,05 est considérée comme significative et n = 5 représentent le nombre de rats dans chaque lot.

Etude de l'activité analgésique

Les expériences ont été réalisées sur un modèle de douleur induit par l'acide acétique chez la souris mises à jeun 15 heures avant l'expérimentation. L'injection intra-péritonéale d'acide acétique à 3% chez la souris provoque un syndrome douloureux qui se manifeste par des contorsions caractéristiques avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale. Le nombre d'étirements est comptabilisé 20 minutes après injection de l'acide acétique (Sy et al., 2009). Le gavage *per os* a été fait à l'aide d'une sonde gastrique et chaque lot reçoit :

- Lot témoin : de l'eau physiologique à raison de 1 ml/100g de poids corporel ;
- Lot 1 : la solution aqueuse de l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, à la dose de 100 mg/kg, *per os* ;
- Lot 2 : la solution aqueuse de l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, à la dose de 300 mg/kg, *per os* ;
- Lot de référence : de l'acide acétylsalicylique à la dose de 100 mg/kg, *per os*.

Deux heures après gavage, 0,1ml d'une solution d'acide acétique à 3%, est injectée par voie intra-péritonéale aux souris et le nombre de contorsions (NC) pour chaque souris a été compté, sur une durée de 30 minutes. Le pourcentage d'inhibition (PI) de

la douleur a été obtenu à partir de la formule suivante :

$$PI = \frac{NCTe - NCTr}{NCTe} \times 100$$

NCTe = nombre moyen des contorsions dans le lot témoin ;

NCTr = nombre moyen des contorsions dans le lot traité.

Les moyennes de contorsions dans les groupes traités ont été comparées au groupe témoin avec le test de Scheffé (Sy et al., 2009). Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative et $n = 6$ représentent le nombre de souris dans chaque groupe.

RESULTATS

Activité anti-inflammatoire

L'évolution du volume de la patte, suite à l'administration de la carraghénine est dépendante du temps. L'augmentation est respectivement de $31,68\% \pm 4,47$; $57,31\% \pm 3,77$ et $88,47\% \pm 6,26$ à la deuxième, quatrième et sixième heure, après induction de l'œdème (Tableau 1).

L'administration *per os* de l'acide acétylsalicylique prévient de façon significative ($p < 0,05$; $n=5$) l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine, en comparaison avec le lot témoin. En effet, on obtient au bout de 2 heures $5,80 \pm 0,89\%$ vs $31,68\% \pm 4,47$; 3 heures $7,94 \pm 1,24$ vs $44,30\% \pm 4,05$; 4 heures $20,6\% \pm 1,16$ vs $57,31\% \pm 3,77$; 5 heures $35,9\% \pm 4,68$ vs $74,39\% \pm 5,43$ et 6 heures $38,99\% \pm 3,98$ vs $88,47\% \pm 6,26$ (Tableau 1).

L'administration *per os* de l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, à la dose de 100 mg/kg prévient de façon significative ($p < 0,05$; $n=5$) l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine, en comparaison avec le lot témoin. En effet on obtient au bout de 2 heures $13,76\% \pm 3,90$ vs $31,68\% \pm 4,47$; 3 heures $31,23\% \pm 6,75$ vs $44,30\% \pm 4,05$; 4 heures $36,31\% \pm 8,10$ vs $57,31\% \pm 3,77$; 5 heures $40,37\% \pm 8,41$ vs $74,39\% \pm 5,43$; 6 heures $44,12\% \pm 10,08$ vs $88,47\% \pm 6,26$.

Ces résultats montrent que les variations de volume des pattes après administration de la carraghénine, sont

significativement différentes entre le groupe contrôle et celui ayant été traité avec l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides*.

À la dose de 300 mg/kg *per os*, l'extrait hydroalcoolique prévient de façon plus importante le processus inflammatoire, comparée à la dose de 100 mg/kg. En effet, l'augmentation du volume de la patte de rat est respectivement de $6,05\% \pm 1,78$; $9,98\% \pm 3,84$ et $13,02\% \pm 6,46$ à la deuxième, quatrième heure et sixième heure avec 300 mg/kg, contre respectivement $5,80\% \pm 0,89$; $20,6\% \pm 1,16$ et $38,99\% \pm 3,98$ aux mêmes heures avec 100 mg/kg d'acide acétylsalicylique (Tableau 1)

Étude de l'activité analgésique

Le groupe témoin ayant reçu de l'eau physiologique présente, après injection intrapéritonéale de l'acide acétique à 3%, une moyenne de contorsions de $109,5 \pm 7,71$ sur une durée de 30 minutes. Le temps de latence d'apparition de ces contorsions est de 5 minutes (Tableau 2). L'administration *per os* de l'acide acétylsalicylique à la dose de 100 mg/kg, prévient de façon significative l'apparition de contorsions liées à l'administration de l'acide acétique ($29,33 \pm 11,42$ vs $109,5 \pm 7,71$) ($p < 0,05$; $n=6$) (Tableau 2).

L'administration *per os* de l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* prévient de façon dose dépendante, l'apparition de contorsions chez la souris. Avec 100 mg/kg de l'extrait hydroalcoolique, les contorsions observées sont significativement différentes de celles observées avec le groupe témoin ($54,16 \pm 5,07$ vs $109,5 \pm 7,71$) ($p < 0,05$, $n=6$) (Tableau 2).

À 300 mg/kg *per os*, l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* prévient l'apparition de la douleur de façon identique à l'acide acétylsalicylique, administré à la dose de 100 mg/kg *per os*. Les contorsions observées sont $29,33 \pm 11,42$ et $29,66 \pm 7,98$ avec respectivement 100 mg/kg d'acide acétylsalicylique et 300 mg/kg d'extrait (Tableau 2).

Tableau 1 : Activité anti-inflammatoire chez des rats traités avec un extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de l'acide acétylsalicylique.

Tp	Témoin	AAS100 (100 mg/kg)		EHA100 (100 mg/kg)		EHA300 (300 mg/kg)	
	PA (%)	PA (%)	PI(%)	PA (%)	PI (%)	PA (%)	PI (%)
h	31,68±4,47a	5,80±0,89b	81,69	13,76±3,90c	56,56	6,05±1,78b	80,90
3 h	44,30 ±4,05a	7,94±1,24 b	82,08	31,23±6,75c	29,50	8,12±2,87 b	81,67
4 h	57,31±3,77b	20,6±1,16a	64,05	36,31±8,10c	36,64	9,98±3,84d	82,58
5h	74,39±5,43a	35,9±4,68 b	51,74	40,37±8,41c	45,73	17,86±6,34d	75,99
6 h	88,47±6,26a	38,99±3,98b	55,93	44,12±10,08c	50,13	13,02±6,46	85,28

AAS100 : acide acétylsalicylique à 100mg/kg ; EHA100 : extrait hydroalcoolique ; À 100 mg/kg ; AHA300 : extrait hydroalcoolique à 300 mg/kg ; PA : pourcentage d'augmentation du volume des pattes ; PI : pourcentage d'inhibition
Sur une ligne, les résultats avec des lettres différentes (a, b, c, d) sont significativement différents.
(p< 0,05 vs témoin, ns vs AAS).

Tableau 2 : Activité analgésique chez des souris traitées avec un extrait hydroalcoolique de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de l'acide acétylsalicylique.

Lots	Témoin	AAS100 (100 mg/kg)	EHA100 (100 mg/kg)	EHA300 (300mg/kg)
NC	109,5±7,71a	29,33±11,42b	54,16±5,07c	29,66±7,98b
PI(%)	-	73,21	50,54	72,9

NC : nombre de contorsions ; PI : pourcentage d'inhibition
(p< 0,05 vs témoin, ns vs AAS).

DISCUSSION

Pour les deux activités, anti-inflammatoire et analgésique, l'extrait hydroalcoolique de *Z. zanthoxyloides* agit de façon dose-dépendante. Ces deux activités se retrouvent dans les extraits de racines. En effet, un extrait brut aqueux des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* réduit de façon significative les prostaglandines (PGE₂) plasmatiques induites par la carraghénine (ABA et Mensah-Attipoe, 2008a). L'extrait agirait par une inhibition non sélective des cyclooxygénases 1 et 2 pour baisser le taux plasmatique de PGE₂. Des alcaloïdes isolés et purifiés de l'écorce de racine de *Z. zanthoxyloides* ont montré une activité anti-prostaglandine synthétase (Oriowo, 1982). Le fagaramide isolé des racines a montré *in vitro*, des effets anti-inflammatoires chez des animaux de laboratoire (Oriowo, 1982).

Par ailleurs, l'extrait aqueux brut de l'écorce de racine de *Z. zanthoxyloides* a une activité analgésique sur des modèles de

douleur de la plaque chauffante et pression de patte (ABA et Mensah-Attipoe, 2008b)

Il est fort probable que l'on retrouve dans les feuilles, les mêmes composés responsables des activités anti-inflammatoire et analgésique des extraits de racines.

Conclusion

Les feuilles de *Z. zanthoxylum* ont montré une réelle efficacité sur l'inflammation et la douleur. Cette activité, qui est comparable à celle de l'acide acétylsalicylique à la dose de 300 mg/kg, permet de suggérer l'utilisation des feuilles à la place des racines, dans les pathologies accompagnées d'inflammation et de douleur comme la drépanocytose. Une investigation sur la composition chimique des feuilles pourrait conforter cette perspective.

REFERENCES

Aba P, Mensah-Attipoe J. 2008a. *In Vivo* Inhibition of Prostaglandin

- E₂ Production by Crude Aqueous Extract of the Root Bark of *Zanthoxylum xanthoxyloides*. *Ghana Med J.*, **42**(2): 85–88.
- Aba P, Mensah-Attipoe J. 2008b. Crude aqueous extract of the root bark of *Zanthoxylum xanthoxyloides* inhibits white blood cells migration in acute inflammation. *Ghana Med J.*, **42**(3): 117–119.
- Abbal M, Alric L, Cantagrel A, Delisle B. 2013. Réaction inflammatoire : aspects biologiques et cliniques. Conduite à tenir. <http://www.medecine.upstlse.fr/DCEM2/module8/item112/pdf/Mod>.
- Bannwarth B, Schmidt J, Queneau P. 2001. Antalgiques non morphiniques. Douleurs aiguës, douleurs chroniques, soins palliatifs, Module n°6, Med-line Éditions.
- Bassène E. 2012. *Initiation à la Recherche sur les Substances Naturelles ; Extraction, Analyse, Essais Biologiques*. Presses Universitaires de Dakar : Dakar.
- Eklun-Natey RD, Balet A. 2012. *Pharmacopée Africaine. Dictionnaire et Monographies Multilingues du Potentiel Médicinal des Plantes Africaines. Monographies* (Vol 2). Editions d'en bas – Traditions et Médecine T&M : Genève.
- Oriowo MA. 1982. Anti-inflammatory activity of piperonyl-4-acrylic isobutyl amide, an extractive from *Zanthoxylum xanthoxyloides*. *Planta Med.*, **44**(1):54–56.
- Payen J-F. 2002. Bases physiopathologiques et évaluation de la douleur (65). <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/>
- Prescott SL. 2013. « Early-life environmental determinants of allergic diseases and the wider pandemic of inflammatory noncommunicable diseases. », *J Allergy Clin. Immunol.*, **131**(1): 23-30.
- Pousset JL. 2004. *Plantes Médicinales d'Afrique. Comment les Reconnaître et les Utiliser ?* Edisud: La Calade, 3120 Route d'Avignon
- Sy GY, Fall AD, Diatta W, Gueye M, Badji, Bassène E, Faye B. 2009. Analgesic and anti-inflammatory activity of aqueous root extract of *Cassia sieberiana* D. C. (Caesalpinaceae) *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, **3**(12) : 651-653.